Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. F. Heni

Die Bewertung menschlicher Chromosomen in Blut- und Knochenmarkskulturen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
MARIA GROHE
aus Ulm

1965

8019

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. F. Heni

Die Bewertung menschlicher Chromosomen in Blut- und Knochenmarkskulturen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
MARIA GROHE
aus Ulm

1965

Dekan: Professor Dr. med. H. HARMS

Berichterstatter: Professor Dr. med. F. HENI

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Fotodruck PRÄZIS · Tübingen

INHALTSANGABE

Seite

EINLEITUNG 1

AUSFÜHRUNG 2

Methode 2

Material
zehn Blut- und vierzehn Knochenmarkskulturen
von acht Patienten 3

Diskussion 15

a) Chromosomenverlust in Blut- und Knochenmarkskulturen mit Berücksichtigung des Alterseinflusses

b) Chromosomenverlust bei abnormen Chromosomensätzen und Mosaiken

c) Extrachromosom bei der Pelger-Huët'schen Kernanomalie

d) Polyploidie

ZUSAMMENFASSUNG 20

LITERATURVERZEICHNIS 21

Lebenslauf

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547609_0114

EINLEITUNG

Im Jahre 1956 wurde von Tjio und Levan nach einer neuen Methode zur Darstellung der menschlichen Chromosomen festgestellt, daß der Mensch normalerweise in seinen Zellkernen 46 Chromosomen hat, 22 Autosomenpaare und 2 Gonosomen, X und Y. Seitdem hat die cytogentische Forschung weitere Fortschritte gemacht: Die Schweden Böök und Mitarbeiter (6,7) und die Engländer Ford, Hungerford, Moorheard (10, 19) haben die Technik der Praeparation so vervollkommnet, daß die Cytogenetik in der klinischen Medizin Eingang finden und diagnostisch angewandt werden konnte. Heute kann man außer Knochenmark und peripherem Blut auch mesenchymales und epitheliales Gewebe in vitro kulturieren. Bei jeder Methode kommt es freilich infolge der Praeparation zu numerischen Veränderungen des Chromosomenbestandes und in geringem Maße zu strukturellen Aberrationen an den Chomosomen der einzelnen Zellen, die von Labor zu Labor wechseln und bei der Auswertung der Untersuchungsergebnisse berücksichtigt werden müssen.
Die Höhe praeparativer Aberrationen in Knochenmarkskulturen von Personen mit normalen Chromosomensätzen ist durch den Edinburger Arbeitskreis statistisch signifikant dargestellt worden. Weniger untersucht sind Abwegigkeiten bei pathologischen Karyotypen, insbesondere beim Vorkommen mehrerer paralleler Zellstämme in einer Kultur, und der Vergleich von Knochenmarks- und Blutkulturen.

Gegenstand dieser Arbeit soll eine Gegenüberstellung und Diskussion der letzten 10 Blut- und 14 Knochenmarkskulturen sein, die im genetischen Labor der Med. Poliklinik Tübingen aufgearbeitet wurden. Davon wurden die Kulturen B 2, B 3, B 4, K 7 und zum Teil auch K 2 von mir persönlich nach Mitoseplatten durchmustert, die Chromosomen gezählt und die Kernanalysen durchgeführt. Die Aufarbeitung der Kulturen aber und die Auswertung der übrigen Blut- und Knochenmarkskulturen erfolgte durch das Labor. Meine Ergebnisse wurden von Dr. Siebner überprüft.

AUSFÜHRUNG

Methode:

Die Blutkulturen wurden nach einer Modifikation der von Moorheard und Mitarbeiter (19) angegebenen Methode bearbeitet und nach 65-66 stündiger Inkubation unterbrochen, in dem das Nährmedium durch eine hypotone Salzlösung ersetzt wurde. Drei Stunden vorher wurde Colcemid (Ciba) zur Anreicherung der Mitosen zugesetzt.
Die Knochenmarkskulturen wurden 7 Stunden inkubiert, und fünfzig Minuten vor Abschluß der Kultur erfolgte der Colcemid-Zusatz.
Beide Kulturen wurden dann im wesentlichen nach den Angaben des Arbeitskreises um Ford aufgearbeitet. In der Regel wurden von den nach Feulgen gefärbten Zellsuspensionen Quetschpraeparate angefertigt. Aus den Blutkulturen wurden außerdem zum Teil nach raschem Lufttrocknen mit Orcein gefärbte Praeparate gewonnen, die gewöhnlich noch mit einer abgewandelten Weigert-Färbung nachbehandelt wurden.
Unter dem Mikroskop wurden die Chromosomen in der Metaphase der Zellteilung mit der Oelimmersion ausgezählt, photographiert und mit Hilfe von Photomontagen nach der Denver-Classification (31) analysiert. In Denver (Colorado-USA) kam man überein, die Chromosomen nach ihrer Größe und nach der Lage des Centromers paarweise in sieben Gruppen zu unterteilen. Das etwas blasser angefärbte Centromer teilt jedes Chromosom in vier Chromatidarme; je nach seiner Lage (median, submedian, subterminal) entstehen x- und y-förmige Gebilde, die paarweise aneinander gereiht werden. Das Längenverhältnis zwischen großen und kleinen Chromatidarmen ist somit ein konstantes Merkmal jedes einzelnen Chromosomenpaares. Außerdem spielen noch heterochromatische Anhängsel (Satelliten), die im Blut besser als im Knochenmark zur Geltung kommen, für die Paarung der 44 Autosomen und Identifizierung der Geschlechtschromosomen X und Y eine Rolle.
Das X-Chromosom ist von den Chromosomen des 6. und 7. Paares in der Gruppe C schwer zu unterscheiden. Der Größe nach gleicht das X-Chromosom dem Autosomenpaar Nr. 21 oder Nr. 22, doch ist es meistens von schlankerer Gestalt.

Heute besteht die Ansicht (1, 20), daß man genau feststellen kann, ob der Patient die normale Anzahl an X-Chromosomen besitzt, oder ob bei ihm eine Anomalie der Geschlechtschromosomen wie z.B. das Klinefelter Syndrom mit

zwei X-Chromosomen vorliegt; denn die Zahl der X-Chromosomen ist um 1 größer als die Zahl der Barr'schen Körperchen, die im Wangenschleimhautabstrich wahrscheinlich dem heterochromatischen X-Chromosom entsprechen.

Im Blutausstrich lassen gestielte Kernausstülpungen der Leukocyten, sogenannte Drumsticks, nicht mit gleicher Sicherheit auf die vorhandenen X-Chromosomen schließen (Bergemann, 5 + 5a).
Zur Methode der Aufarbeitung bemerken Jakobs und Mitarbeiter (14) noch, daß durch zu starkes Quetschen Chromatidarme abgebrochen, oder Chromosomen der Länge nach in zwei Hälften gespalten werden könnten. Diese Artefakte gleichen den Chromosomen der Gruppe D (13 - 15) oder G (21 - 22) und wurden als "telocentric chromosomes" bezeichnet. Außerdem kommen auch sekundäre Verkürzungen der Chromatidarme eines homologen Paarlings vor (16). Ursache dafür könnten eine Verzeichnung durch die Lage des Chromatids über- oder unterhalb der Objektebene oder eine ungleichmäßige Kontraktion der Chromatiden durch Colcemideinwirkung sein.

Material:

1) Von einer 31jährigen Patientin mit einer perniciösen Anaemie und einem Hypoparathyreoidismus wurden zwei Kulturen von Knochenmark und eine von peripherem Venenblut aufgearbeitet. Eine weitere Blutkultur wurde nach Saksela und Moorheard (26) mit Methanol-Eisessig fixiert. Die Photographie und Analyse von 22 Karyotypen zeigte einen einheitlichen normalen diploiden Zellsatz mit 46 Chromosomen, 44 Autosomen und 2 Gonosomen X und Y.

Tabelle I

Chrom. Nr.	40	41	44	45	46	polyploid	Summe
K1 gezählte Mitosen:	1	-	-	1	20 (5)	-	22 (5)
Prozentsatz:			9,1 %		90,9 %	-	100 %
B1 gezählte Mitosen:	-	1	-	5	45 (17)	-	51 (17)
Prozentsatz:			11,7 %		88,24 %	-	100 %

(Die Anzahl der analysierten Mitoseplatten steht in Klammer)

Strukturelle Veränderungen an den Chromosomen waren nicht vorhanden. Die von Saksela und Moorheard beschriebenen färberischen Unterschiede der X - Chromosomen in einem Großteil von Fibroblastenmitosen konnten nicht festgestellt werden.

2) Bei einem 24jährigen Patienten bestand auf Grund des klinischen Befundes und des Wangenschleimhautabstriches, der 15 % chromatin positive Zellkerne ergab, der Verdacht auf ein Klinefelter-Syndrom. Je zwei Kulturen von peripherem Venenblut und Knochenmark des Kranken wurden aufgearbeitet und ergaben folgende Ergebnisse:

Tabelle II

Chrom. Nr.	33	41	43	45	46	47	polyploid	Summe
K2 gezählte Mitosen:	-	-	1	-	-	13 (2)	1	15 (2)
Prozentsatz:			6,6 %			86,6 %	6,6 %	100 %
B2 gezählte Mitosen:	1	1	2	3	1	42 (12)	-	50 (12)
Prozentsatz:			16 %			84 %	-	100 %

Die Diagnose eines Klinefelter-Syndroms wurde durch die Analyse von 14 Karyotypen bestätigt, die einen einheitlichen diploiden Zellsatz mit 47 Chromosomen ergab. Bei dem überzähligen Chromosom, das konstant in die Gruppe C (6 - 12) passen würde, handelt es sich um ein zweites X-Chromosom. Damit ist die gonosomale Struktur XXY des Klinefelter-Syndroms bewiesen. 16 % der gezählten Mitosen hatten 46 und weniger Chromosomen, und wurden, da keine Einheitlichkeit im Chromosomenverlust bestand, als allgemeiner praeparativer Verlust bewertet.

Abb. 1: Karyotyp mit 47 Chromosomen des Patienten mit dem Klinefelter-Syndrom (Blutkultur).

3) Tabelle III zeigt die Ergebnisse einer Blut- und zweier Knochenmarkskulturen bei einem 17jährigen Jungen mit einer Dysostosis-Mandibolo-Facialis (Franceschetti-Syndrom), über die bereits von Siebner (28) berichtet wurde.

Tabelle III:

Chrom. Nr.	39	45	46	47	polyploid	Summe
K3 gezählte Mitosen:	-	-	46 (16)	-	-	46 (16)
Prozentsatz:	-	-	100 %	-	-	100 %
B3 gezählte Mitosen:	1	-	29 (6)	-	1 (1)	31 (7)
Prozentsatz:	3,22 %		93,5 %	-	3,22 %	100 %

93,5 % der Blut- und 100 % der Knochenmarksmitosen des Patienten hatten einen normalen diploiden Chromosomensatz von 44 Autosomen und zwei Gonosomen, X und Y. Einmal konnten im Blut 92 Chromosomen gezählt und analysiert werden. Hier wäre eine tetraploide Zelle denkbar. Da jedoch ein Kerngerüst, d.h. eine Spindel und Kernmembran, nicht wahrgenommen werden konnte, sind zwei dicht nebeneinanderliegende Mitoseplatten mit 46 Chromosomen wahrscheinlicher.
Besonders wurde auf die Chromosomen der Gruppe D und E (13-18) geachtet, da häufig wesentliche Mißbildungen des Gesichtsschädels beim Franceschetti-Syndrom auch Merkmal des Trisomie-18-Syndroms (4, 30) sind und ebenfalls bei der Trisomie der Chromosomenpaare 13-15 (21, 22) vorkommen. Strukturanomalien, d.h. Abbrüche und Verlängerungen der Chromatidarme, konnten nicht festgestellt werden. Auch das Chromosomenpaar Nr. 1, das vereinzelt beim Oral-Facial-Digital-Syndrom infolge partieller Trisomie unter sich verschieden lang ist, war immer unauffällig.

4a) Von einem 6jährigen Jungen mit Adreno-Genitalem-Syndrom, einer Hypospadie und nicht descendierten Gonaden wurden zwei Knochenmarkskulturen ausgewertet. Der Befund in Tabelle IV erklärt den Wangenschleimhautabstrich, der mit 26 % chromatin positiven Zellen auf mehr als ein X-Chromosom im Karyotypen schließen ließ.

Tabelle IV:

Chrom. Nr.	43	46		47	polyploid	Summe
K4 gezählte Mitosen:	2	39		11	-	52
analysierte Mitosen:	-	XY 6	XX 9	XXY 5	- -	- 20
Prozentsatz der gezählten Mitosen:	3,85 %	50 = 96,15 %			-	52=100 %
Prozentsatz der vollständig diploiden Mitosen:		46,8%	31,2%	22%		

Die Photomontagen von 20 Karyotypen zeigten drei einheitliche Zellstämme mit diploidem Chromosomensatz, 78 % hatten 46 Chromosomen, davon 46,8 % mit X und Y als Geschlechtschromosomen, 31,2 % 44 Autosomen und zwei X-Chromosomen. 22 % der Mitosen unterschieden sich durch ein weiteres Chromosom, bei dem es sich um ein zweites X-Chromosom handelte, Darnach durfte man einen Zwitter mit männlicher und weiblicher Gonadenanlage annehmen. Die Laparatomie zeigte einen Ovotestis.

4b) Weiterhin wurden von einem 11jährigen Jungen mit Symptomen eines Pseudohermaphroditismus masculinus und einer Hypospadie bei nicht tastbaren Gonaden zwei Knochenmarkskulturen angelegt. Bei der Untersuchung des Wangenschleimhautabstriches fand man 5 Chromatinkörperchen auf 1000 ausgezählte Zellen. Dieser Befund ist für eine XXY Konstellation zu wenig und andererseits für eine normale Struktur des Typs XY zu viel.

Tabelle V:

Chrom. Nr.	42	43	44	45	46		47	polyploid	Summe
K5 gezählte Mitosen:	1	4	2	43	18		6	2	76
analysierte Mitosen:	-	-	-	XO 10	XY 10	XX 5	XXY 6	-	31
Prozentsatz der gezählten Mitosen:	7 = 9,7 %			67 = 88,2 %				2,6 %	100 %
Prozentsatz der vollständig dipl. Mitosen:				64,2 %	17,9 %	8,95 %	8,95 %		

Die Analyse von 31 Mitoseplatten bestätigte die Vermutung mehrerer Zellstämme: Man fand ein vierfaches Mosaik mit den Konstellationen XO, XY, XXY, XX. Es war ungewiß, ob es sich hier um einen echten Zwitter oder um einen Pseudohermaphroditen handelte. Bei der Operation fand man aber rechts Hodengewebe und links ein Rudiment, wie man es bei der Gonadendysgenesie findet. Dieser Befund kann mit dem Chromosomenbefunden in Einklang gebracht werden (Siebner, Schöck, Heni, 29, 11). So muß man an ein echtes Mosaik bei Gonadendysgenesie (links) und männlichem Pseudohermaphroditismus (rechts) denken.

5) Bei einem Geschwisterpaar mit der Pelger-Huët'schen Kernanomalie der Leukocyten und bei einer weiteren nicht verwandten 71jährigen Patientin mit der gleichen Anomalie wurden insgesamt fünf Blut- und vier Knochenmarkskulturen aufgearbeitet.

Tabelle VI a: Die Ergebnisse der Chromosomenzählung

Chrom. Nr.	39	41	43	44	45	46	47	48 polyp.	Summe
K6 Patient (K.Mark)	-	-	-	3 (3)	-	23 (7)	17 (8)	2 (1) 5 (4)	50 (23)
B4 Patient (Blut)	-	1	-	-	3	42 (7)	5 (3)	- -	51 (10)
B5 Schwester (Blut)	1	-	1	1	3	29 (3)	12 (10)	3 (3) 1	51 (16)
K7 Patientin (K.Mark)	-	-	2	2	2	24 (6)	20 (16)	1 (1) -	51 (23)

Aus Tabelle VI a geht hervor, daß die Zellen mit 45 und weniger Chromosomen uneinheitliche Chromosomenbestände aufweisen. Auch ergab die Analyse von drei Mitoseplatten mit 44 Chromosomen keinerlei Regelmäßigkeit im Chromosomenverlust: Bei der ersten Zelle wurden je ein Paarling des Autosomenpaares Nr. 3 und Nr. 18, bei der zweiten Zelle ein Paarling der Nr. 4, Nr. 5 und Nr. 18 vermißt. Doch fand man in dieser Zelle ein kleines Extrachromosom. Der dritten Zelle fehlte je ein Chromosom von Nr. 5 und Nr. 18. Da sich keine einheitliche Stammlinie herausschälen ließ, wurde das als praeparativer Verlust bewertet.

Tabelle VI b: Die Ergebnisse der Chromosomenzählung in %

	Verlust in %	diploide Mitosen in %
K6 Patient:	6,0 %	84,0 %
B4 Patient:	8,0 %	92,16 %
B5 Schwester:	11,76 %	86,27 %
K7 Patientin:	11,8 %	88,2 %

Die Photomontagen von 72 Zellen mit 46 Chromosomen zeigten bei allen drei Patienten keinerlei Abweichungen von einem normalen diploiden Chromosomensatz. Daneben fand sich aber ein weiterer Zellstamm mit 47 und vereinzelt einer mit sogar 48 Chromosomen. Ihre Analyse (42 Mitoseplatten) wie auch die eines Karyotypen mit 44 Chromosomen ergaben neben den üblichen 46 Chromosomen ein kleines Extrachromosom.

Tabelle VI c: prozentuale Verteilung der dipl. Zellstämme

Chrom. Nr.	46	46 + 1 Extrachrom.	47 + 1 Extrachrom.
K6 Patient:	54,8 %	40,4 %	4,8 %
B4 Patient:	89,4 %	11,6 %	-
B5 Schwester:	65,9 %	27,3 %	6,8 %
K7 Patientin:	53,3 %	44,5 %	2,2 %

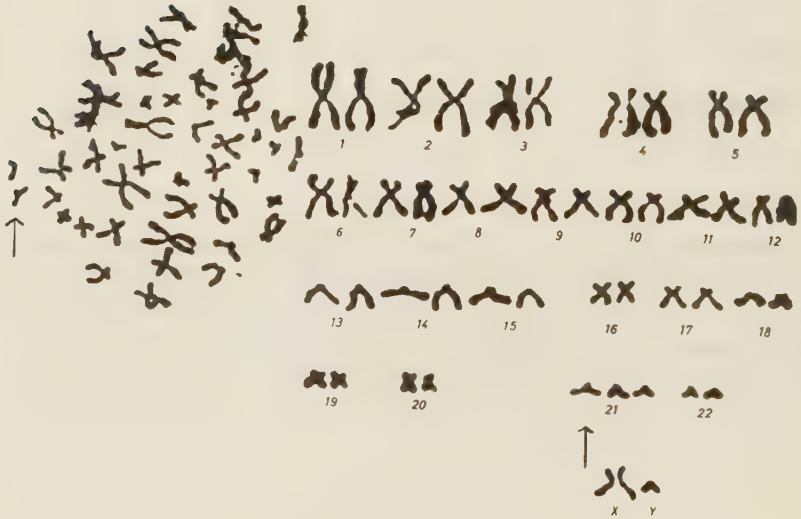

Abb. 2: Links Metaphase und rechts Karyotyp mit 47 Chromosomen des Patienten mit der Pelger-Huët'schen Kernanomalie (Markkultur). Das Extrachromosom ist durch einen Pfeil gekennzeichnet.

Das Extrachromosom ist etwas kleiner als das Autosomenpaar Nr. 20 und besitzt ein subterminales Centromer. Ein zweites Y-Chromosom, das kürzlich bei einem gesunden fertilen Mann von Mauschka und Mitarbeitern beschrieben wurde, konnte ausgeschlossen werden; denn die Schwester dieses Patienten und die andere Patientin mit der Pelger-Huët'schen Kernanomalie weisen dasselbe Extrachromosom auf. Auch eine Trisomie kommt hier nicht in Betracht, da dieses Chromosom keinem Autosomenpaar zugeordnet werden kann.
Das weitere überzählige Chromosom der Karyotypen mit 48 Chromosomen zeigte keine Regelmäßigkeit in Größe und Form: Mehrmals glich es der Gruppe C und einmal der Gruppe E und F. Da es nicht einheitlich war, durfte man keinen neuen Zellstamm annehmen.
Bei der Aufarbeitung der verschiedenen Kulturen galt den polyploiden Zellen ein besonderes Interesse. Da diese Mitoseplatten praeparativ nicht immer ganz einwandfrei waren, konnte man nur wenige analysieren. Fünf Zellanalysen zeigten einen tetraploiden Karyotypen von 92 Chromosomen. Der Prozentsatz an polyploiden Zellen wurde nicht nach den ausgezählten Mitoseplatten, sondern nach allen beobachteten errechnet. Darnach wurden in den Knochenmarkskulturen K1 0 %, K2 3 %, K4 5,4 %, K5 6 %, K6 9,4 % und K7 1,6 % Polyploide gefunden. In allen Blutkulturen aber mit Ausnahme von B1 (1,8%) wurden keine polyploiden Chromosomensätze festgestellt.

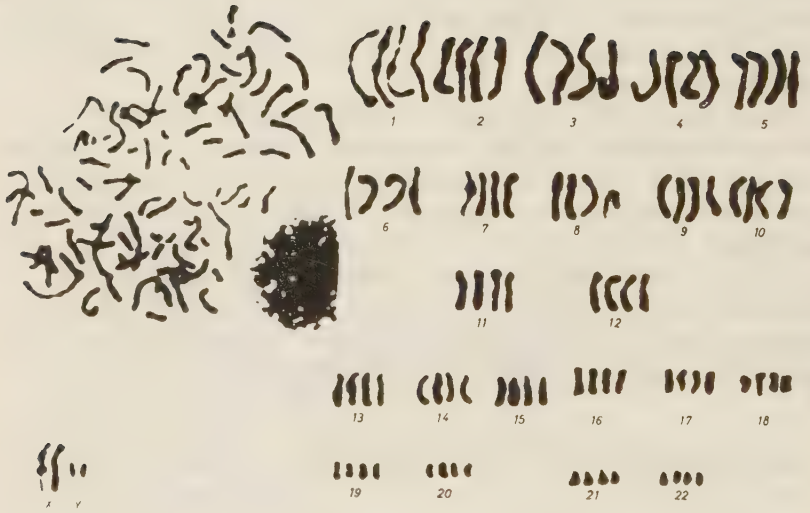

Abb. 3: Links Metaphase und rechts Karyotyp einer tetraploiden Zelle mit 92 Chromosomen ohne morphologische Abwegigkeiten (Markkultur).

Diskussion:

Nach Jakobs und Mitarbeitern (14, 15) kann sich im Anteil der aneuploiden Zellen, d.h. solcher mit 45 und weniger Chromosomen, eine normale Variation der Gesamtchromosomenzahl verbergen. Aber Mitosen des gleichen Patienten mit unterschiedlichem Chromosomenbestand, in denen ungleiche Chromosomen fehlen, sind im allgemeinen durch die Praeparation entstanden und müssen auch so gewertet werden. Ferner ist beim Vergleich der Blut- und Knochenmarkskulturen zu erwähnen, daß die Blutmitosen für die praeparative Aufarbeitung empfindlicher zu sein scheinen. Außerdem werden die Blutkulturen zehnmal länger als die des Knochenmarks inkubiert, so daß auch schon Veränderungen in vitro möglich sein können, was bisher aber nicht bestätigt wurde.
Die Untersuchungen des Arbeitskreises um Court Brown (8) ergaben in Knochenmarkskulturen von Patienten mit normalen Chromosomensätzen von 1602 gezählten Zellen 85 % Karyotypen mit 46 Chromosomen und 12 % Zellen mit weniger (hypomodal) und 3 % mit mehr (hypermodal) als 46 Chromosomen.

Die von uns ausgezählten Mitoseplatten wiesen maximal nur 9,1 % hypomodale Zellen auf. Sie wurden als Verluste gewertet.

Tabelle VII: Verlustquoten in Blut- und Knochenmarkskulturen

Nr.	Blutkultur	Knochenmarkskultur
B1 + K 1	11,76 %	9,1 %
B2 + K 2	16,0 %	6,6 %
B3 + K 3	3,2 %	0,0 %
B4 + K 6	7,8 %	6,0 %

Diese Gegenüberstellung zeigt deutlich, daß der Verlust in Blutkulturen größer ist als in Knochenmarkskulturen. Zur Frage, inwieweit das menschliche Lebensalter die Chromosomen beeinflussen kann, äußern sich Jakobs und Mitarbeiter (14) folgendermaßen: Die hypomodalen Zellen, also solche mit unvollständig diploidem Satz, nehmen mit dem Alter zu, und zwar mehr als die

Hypermodalen und noch mehr bei abnormen als bei normalen Chromosomensätzen. Die von uns untersuchten Patienten sind fast durchweg jüngeren Alters, zwischen 6 und 31 Jahren. Nur eine Patientin (K 7) ist 71 Jahre alt. Der Verlustanteil in ihrer Knochenmarkskultur von 11,8 % ist höher als der bei jüngeren Patienten und bestätigt damit die Ergebnisse von Jakobs und Mitarbeitern. Nach Court Brown und Mitarbeitern (8) besteht bei atypischen Chromosomensätzen eine abnorme Veränderlichkeit der Chromosomenzahl und damit ein größerer Verlust im Vergleich zu Kulturen mit normalen Karyotypen, da anscheinend diese Metaphaseplatten für praeparative Eingriffe empfindlicher sind. Dieser Arbeitskreis hatte in Knochenmarkskulturen von Patienten mit dem Klinefelter-Syndrom bei 120 ausgezählten Mitoseplatten 16,0 % Verlust aufzuweisen. Auch bei uns ergab die Aufarbeitung einer Blut- und zweier Knochenmarkskulturen bei einem Patienten mit normalem diploiden Chromosomensatz 0 - 3,2 % Verlust, die von zwei Blut- und Knochenmarkskulturen des Klinefelter-Patienten dagegen 6,6 % bis 16,0 % Verlust, so daß man deutlich die ansteigende Verlustquote erkennen kann. Dies ist besonders zu erwähnen, denn das vergleichende Zahlenmaterial bei atypischen Chromosomensätzen ist noch nicht sehr groß. Bei der Analyse mehrerer Mitosen des 11jährigen Jungen (K 5) fielen vier verschiedene, in sich aber einheitliche Zellstämme auf, nämlich Zellen mit der geschlechtschromosomalen Struktur XO, XY, XXY, XX. Solche verschieden geartete Zellstämme, die in einem oder mehreren Geweben des gleichen Organismus nebeneinander existieren und sich entweder in der Zahl der Autosomen oder der Geschlechtschromosomen, unterscheiden, bezeichnet man als Mosaike (17). Aller Wahrscheinlichkeit nach entstehen sie durch eine Non-Disjunction (17, 31), d.h. durch eine gestörte Chromosomenteilung im Verlaufe einer Reduktionsteilung nach der Befruchtung. Deshalb kann unter Umständen ein Mosaik nur durch die Untersuchung verschiedener Gewebsanteile des gleichen Organismus' nachgewiesen werden; denn eine Non-Disjunction während einer Reduktionsteilung in der Ovo- und Spermiogenese ließe nur Zellstämme mit gleicher Mosaikstruktur entstehen. Die Ursache dieses Vorgangs, bei dem sowohl autosomale Mosaike (Mongolismus, 17) als auch gonosomale Mosaike (Klinefelter- und Turner-Syndrom, 3) auftreten, ist bis jetzt noch unbekannt. Doch könnte die Beeinträchtigung des normalen Teilungsablaufes vielleicht durch ein gestörtes Gen-Gleichgewicht erklärt werden. Somit würde in Kulturen von Organismen mit Mosaiken der Verlustanteil zunehmen. Der Patient mit dem Franceschetti-Syndrom besitzt einen einzigen Zellstamm mit 46 Chromosomen. Bei der Aufarbeitung seiner Kulturen stellte sich ein Verlust von 3,22 % heraus. In den Kulturen des 11jährigen Jungen dagegen fand sich ein vierfaches Mosaik und eine größere Verlustquote von 9,7 %.

Im Knochenmark findet man ein Mosaik viel eher als im Blut, da sich im Knochenmark drei Systeme, das erythropoetische, das myelopoetische und die retikulären Elemente vermehren. Im Blut jedoch gedeihen nur die jungendlichen Lymphocyten (16). Die Abkömmlinge der drei Zellsysteme im Knochenmark vermehren sich aller Wahrscheinlichkeit nach ungleichmäßig stark, so daß man nicht mit Sicherheit erfahren kann, welches System die Mosaike hervorbringt. Da bei Langzeitkulturen in vitro eventuell ein neuer Zellstamm auftreten kann, ist durch Anlegen von mehreren Kulturen des gleichen Patienten ein in vitro entstandenes Mosaik auszuschließen. Ein Mosaik kann man nach Jakobs und Mitarbeitern nur dann sicher annehmen, wenn der prozentuale Anteil an abnormen Karyotypen größer als der des normalerweise auftretenden praeparativen Verlustes ist. Außerdem muß das zusätzliche oder fehlende Chromosom von einheitlicher Natur sein. Benda und Mitarbeiter (3) schlossen mit 16 Chromosomenanalysen bei einem Klinefelter Patienten auf ein fünffaches Mosaik. Der Befund eines Mosaiks ist erst dann gesichert, wenn eine noch größere Zahl von einwandfreien Chromosomenanalysen einen neuen Karyotypen bestätigen.

Das Mosaik, das bei den Trägern der Pelger-Huët'schen Kernanomalie auftrat, ist auffallend. Der Edinburger Arbeitskreis um Ford, Hungerford, Baikie und Nowell (2, 9, 13, 18) fand im Jahre 1959 bei der Chromosomen-Untersuchung von Patienten mit chronisch myeloischer Leukaemie ein überzähliges Chromosom, das Philadelphia (ph 1)-Chromosom, und konnte nachweisen, daß dieses Chromosom im peripheren Blut erst bei einer Zellzahl von 22 000 Leukozyten auftrat, d.h. wenn unreife Vorstufen der myeloischen Reihe ausgeschwemmt wurden. Beim Leukocytensturz nach einer Röntgenbestrahlung der Milz verschwand dieses Ph 1 wieder. Ebenso fanden sich bei uns in den Kulturen der Patienten (K6, K7, B4 und B5) im peripheren Blut auch rundzellige Kerne. Man kann hier also auch mit einer Vermehrung der Zellen der myeloischen Reihe im Blut rechnen. In den analysierten Mitosen unterscheidet sich der zweite Zellstamm mit 47 Chromosomen nur durch das kleine Extrachromosom vom anderen mit 46 Chromosomen. Ein solches Extrachromosom, das keinem vorhandenen Chromosomenpaar zugeordnet werden kann, ist seit 1960 verschiedentlich bei der Makroglobulinaemie nach Waldenström (12, 23) beschrieben worden. Hier dürfte es sich wohl um ein Isochromosom der langen Chromatidarme des zweiten Chromosomenpaares handeln. So diskutieren der Arbeitskreis um Heni (27a + 27b), ob das Extrachromosom bei der Pelger-Huët'schen Kernanomalie aus einem größeren Chromosom durch Deletion nach einer Non-Disjunction entstanden sein könnte. Außerdem wäre ein solches Extrachromosom nach Chromatidbrüchen des Autosomenpaares Nr. 21 mit folgender abnormen Wiedervereinigung und Non-Disjunction denkbar. Das wäre dann derselbe Vorgang,

mit dem Patau und Mitarbeiter (23) die Entstehung des Extrachromosoms beim Morbus Waldenström zu erklären versuchen. Da der Vorgang der Non-Disjunction familiär vorkommt, muß an einen Defekt des mitotischen Apparates in der Leukopoese gedacht werden. Aber in unseren Fällen darf dieses Extrachromosom wohl als eine Eigentümlichkeit der Pelger-Huët'schen Kernanomalie angesehen werden. Durch die nicht mit dem Geschwisterpaar verwandte 71jährige Patientin wird der Verdacht, es könnte eine Familieneigenheit sein, entkräftet.

Der im Vergleich mit unseren anderen Kulturen hohe Chromosomenverlust bei der Pelger-Huët'schen Kernanomalie und das verschiedentlich auftretende 48. Chromosom dürften so erklärt werden, daß bei atypischen Karyotypen eher durch die Praeparation Chromosomen verloren gehen.
Der unterschiedliche Anteil an Zellen mit 46 und 47 Chromosomen in den Blutkulturen von Bruder und Schwester (B4 und B5) ist folgendermaßen zu erklären: Die Aktivität des Phytohaemagglutinins, das zur Kultur der Schwester verwandt wurde, hatte durch die Lagerung nachgelassen. Wie Quaglino und Mitarbeiter (25) zeigten, fördert das Phytohaemagglutinin die Teilung der lymphatischen Elemente, während die polymorphkernigen Neutrophilen unter seiner Wirkung rasch degenerieren. Schwindet also seine Aktivität, dann treten die Mitosen der Neutrophilen und damit der neue Zellstamm mit dem Extrachromosom in gehäuftem Maße auf.
Zum Schluß soll noch auf die polyploiden Zellen eingegangen werden. Sandberg und Mitarbeiter (16) leiten sie von Osteoklasten und Megakaryocyten ab, so daß sie eher im Knochenmark als im Blut zu erwarten sind; er fand im Knochenmark 4 %. Kosonow und Mitarbeiter (16) stellten bei 0,2 % Polyploiden im Knochenmark eine Unabhängigkeit von der Inkubationszeit fest. Wir fanden in den verschiedenen Knochenmarkskulturen 0 - 6 %. Die 9,4 % in der Knochenmarkskultur K6 des Patienten mit der Pelger-Huët'schen Kernanomalie könnten als eine dieser Anomalie eigene Besonderheit gewertet werden. Wahrscheinlicher ist eine zufällige Gegebenheit. Im Blut jedoch stellten Kosonow und Pfeiffer (16, 24) eine gewisse Abhängigkeit von der Inkubationszeit fest; denn nach drei Tagen Inkubation fanden sie 0,4 - 0,7 % und nach vier Tagen 1,5 % polyploide Zellen. Dieser Befund dürfte als Hinweis auf die Zunahme von Endomitosen in der Kultur zu werten sein. Unsere Blutkulturen wiesen mit Ausnahme von B1 = 1,8 % keine Polyploiden auf. Gehäufte Polyploidie ist bisher beim Menschen im Knochenmark bei familiärer haemolytischer Anaemie, Splenomegalie und mehrkernigen Erythroblasten nachgewiesen worden. Chromosomenuntersuchungen bei Neoplasmen ergaben meist hyperdiploide bzw. polyploide Karyotypen. Kosonow und Mitarbeiter (16) fanden bei einem Patienten mit einem Sympathogoniom 10,87 % Polyploide mit 80 - 92 Chromosomen.

Bei allen unseren untersuchten Patienten konnte kein Neoplasma nachgewiesen werden.

ZUSAMMENFASSUNG

Insgesamt wurden von acht Patienten 10 Blut- und 14 Knochenmarkskulturen aufgearbeitet. 546 Mitoseplatten wurden ausgezählt und 182 photographiert und analysiert. Dabei stellte sich heraus, daß der Chromosomenverlust in den Blutkulturen größer ist als in den Knochenmarkskulturen. Auffallend hoch ist der Verlust bei Mosaiken und abnormen Chromosomensätzen, wie etwa beim Klinefelter-Syndrom: Er ist höher als bei normalen Chromosomensätzen, die vom Edinburger Arbeitskreis schon ausgiebig beschrieben wurden.

Die Chromosomenanalysen von drei Patienten mit der Pelger-Huët'schen Kernanomalie der Leukocyten wiesen ein überzähliges kleines Extrachromosom auf, das der Gestalt nach größer ist als das Autosomenpaar Nr. 21 und ein subterminales Centromer besitzt. Aller Wahrscheinlichkeit nach ist es eine Eigentümlichkeit dieser Leukocyten-Kernanomalie.

LITERATURVERZEICHNIS

1) Anders G., Prader A., Hurschteck E., Schärer K., Siebenmann R.E., Heller R.
Helvetia Paediatrica Acta 1960, S. 515.
Multiples Sex-Chromatin und komplexes chromosomales Mosaik bei einem Knaben mit Idiotie und multiplen Mißbildungen.

2) Baikie A.G., Court Brown W.M., Buckton K.E., Harnden D.G., Jakobs P.A., Tough J.M.
Nature (London) 1960, S. 1165
A possible specific chromosome abnormality in human chronic mueloid leucaemia.

3) Benda C.E., Gail Barton, Hirsch B.
Die medizinische Welt, 1962, S. 1605.
Chromosomenstudien an zwei Fällen von Klinefelter-Syndrom.

4) Crawford M.d'A.
Lancet 2, 1961, S. 22.
Multiple congenital anomaly associated with an extra Autosome.

5) Bergemann E.
Schweizer Wochenschrift, 1962, St. 1253.
Geschlechtschromatinbestimmung am Neugeborenen.

5a) Bergemann E.
Vortragsabend des Medizinischen Naturwissenschaftlichen Vereins Tübingen am 14.1.1963. (Med.Welt, 1963, S. 1619)
Abweichungen der Chromosomenzahl beim Menschen mit besonderer Berücksichtigung des XXX-Syndroms.

6) Böök J.A., Santesson B., Zetterquist P.
Acta paediatrica, 1961, S. 217.
Association between congenital heart malformation and variations chromosomal.

7) Böök J.A., Fracarro M., Lindsten J.
Acta paediatrica, 1959, S. 453.
Cytogenetical observations in Mongolism.

8) Bourt Brown W.M., Jakobs P.A., Doll R.
Lancet S. 160, 1960
Interpretation of chromosome countsmade on
bone-marrow cells.

9) Ford C.E., Mole R.H.
Lancet 2, 1959, S. 732.
Chromosome studies in human leucaemia.

10) Ford C.E., Jakobs P.A., Leitha L.G.
Nature 1958, S. 1565.
Human somatic chromosomes.

11) Heni F., Siebner, H., Schöck F.
Medizinische Welt, 1963, S. 1620.
Beobachtung eines Zwitters mit Chromosomenmosaik
XO, XY, XXY, XX.

12) Heni F., Siebner H.
Deutsche medizinische Wochenschrift, 1963, S. 1781
Chromosomenveränderungen bei der Makroglobulinaemie
Waldenström.

13) Ishbel M., Tough J.M., Court Brown W.M.
Baikie A.G., Buckton K.E., Harnden D.G.,
Jakobs P.A., Williams J.A.
Lancet 1962, S. 7247
Chronic myeloid leucaemia, cytogenetic studies before and
after splenic irradiation.

14) Jakobs P.A., Court Brown W.M., Doll R.
Nature, 1961, S. 4794
Distribution of human chromosomes counts in relation to age.

15) Jakobs P.A., Harnden D.G., Buckton K.E.,
Court Brown W.M., King H.M., Mac Gregor,
Mac Bride, Maclean N.
Lancet, 1961, S. 1183
Cytogenetic studies in primary amenorrhoe.

16) Kosonow W., Pfeiffer R.A.
Klinische Wochenzeitschrift, Band VII, 1961, S. 500.
Chromosomendiagnostik in Blut- und Knochenmarkszellen.

17) Kosonow W., Pfeiffer R.A.
Deutsche medizinische Wochenschrift, 28, 1962.
Chromosomenaberrationen und ihre Bedeutung für die Klinik.

18) Luers Th., Struck E., Boll J.
Münchn. Medizinische Wochenschrift, 1962, S. 33.
Über eine spezifische Chromosomenanomalie bei Leukaemie.

19) Moorheard P.S., Nowell P.C., Mellmann M.J.,
Battips D.M., Hungerford D.A.
Exp. cell Researche, 1960, S. 613.
Chromosome preparations of leucocytes cultured from human blood.

20) Ohno Susumu
Lancet, 1963, S. 273.
dynamies of the condensed female X-Chromosome.

21) Patau K.E., Therman D.W., Smith D.W.
De Mars R.J.
Chromosoma, 1961, S. 280.
Trisomy for chromosome Nr. 18 in man

22) Patau K.E., Therman D.W., Smith D.W., De Mars R.J.
Chromosama, 1961, S. 573.
Partial-Trisomy Syndromes.

23) Patau K.E.,
Lancet, 1961, S. 600.
Chromosomale abnormalities in Waldenström-Makroglobulinaemie.

24) Pfeiffer R.A., Schellong G., Kosonow W.
Klinische Wochenschrift, 1962, S. 1058.
Chromosomenanomalien in den Blutzellen eines Kindes
mit multiplen Abartungen.

25) Quaglino D., Hayhoe F.G.J., Flemans R.J.
Nature, 1962, S. 338.
Cytochrom observation on the effect of Phytohaemaglutinin in
short-term tissue cultures.

26) Saksela E., Moorheard P.S.
Cytogenetics, 1962, S. 225.
Enhancement of secondary constrictions and the Hetero-
chromatic X in human cells.

27a) Siebner H., Klaus D., Heni F.
Medizinische Welt, 1963, S. 477.
Ein Extrachromosom bei der Pelger-Huët'schen Kernanomalie.

27b) Siebner H.
Vortragsabend des med. naturw. Vereins Tübingen
am 14.1.1963. (Medizinische Welt, 1963, S. 1620)
Ein Extrachromosom bei der Pelger-Huët'schen Kernanomalie.

28) Siebner H.
Medizinische Klinik, 1963, S. 90.
Das Franceschetti-Syndrom.

29) Siebner, H., Schöck V., Heni F.
Deutsche medizinische Wochenschrift, im Druck,
Pseudohermaphroditismus masculinus mit Gonadendysgenesie
bei Chromosomenmosaik (XO, XY, XXY, XX).

30) Smith D.W., Patau K., Therman E.
Lancet, 1961, S. 211.
Autosomal Trisomy Syndromes.

31) Stadler G., Bodis J., Gouw W.L.
Panorama, Mai 1961.
Über die Chromosomen des Menschen.

Herrn Professor Dr. Felix Heni danke ich für die freundliche Überlassung des Themas, Herrn Dr. Siebner für die technische Unterstützung und Hinweise bei der Abfassung des Manuskriptes.

Lebenslauf

Ich, Maria Grohe, wurde am 24.10.1938 als Tochter des Leo Grohe, Studienrat in Riedlingen, und seiner Ehefrau Maria Grohe geb. Abendschein in Ulm geboren. Ich habe noch zwei Geschwister, bin römisch-katholisch und besitze die deutsche Staatsangehörigkeit.
Vom Herbst 1945 bis Sommer 1949 besuchte ich die Volksschule in Riedlingen, ab September 1949 das dortige Gymnasium. Als im November 1955 meine Eltern nach Rottweil umzogen, trat ich in das Albertus-Magnus-Gymnasium in Rottweil ein. Nach der Reifeprüfung Ostern 1958 widmete ich mich dem Studium der Medizin: Im Sommer-Semester 1958 und Winter-Semester 1958/59 an der Albert-Ludwigs-Universität in Freiburg, vom Sommer 1959 bis Ostern 1961 an der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz. Dort legte ich im August 1960 die ärztliche Vorprüfung ab. Im Sommer-Semester 1961 und Winter-Semester 1961/62 setzte ich an der Julius-Maximilians-Universität in Würzburg mein Studium fort. Die letzten drei Semester studierte ich an der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen und bestand dort am 12.12.1963 das medizinische Staatsexamen.